

蛹虫草菌丝生长特性的初步研究

郑庆委,高淑娴,徐志本,闵宏林

[摘要]目的:研究蛹虫草菌丝的生长特性。方法:通过蛹虫草菌株在培养基上的生长试验,观察其菌丝生长速度及产孢子的数量等生长情况。结果:不同菌株在相同培养基上的生长速度和产孢量相似,相同菌株在不同培养基上差别较大。结论:培养基的成分对蛹虫草菌丝的生长速度和产孢量有较大影响。

[关键词] 蛹虫草;菌丝;分生孢子

[中国图书资料分类法分类号] Q 949.327.6

[文献标识码] A

Preliminary research on hyphae growth of different *Cordyceps militaris* strains

ZHENG Qing-wei, GAO Shu-xian, XU Zhi-ben, MIN Hong-lin

(Department of Medical Microbiology and Parasitology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] Objective: To investigate the growth characteristics of *Cordyceps militaris* hyphae. Methods: In the *Cordyceps militaris* strains' growth test in culture medium, the growth rate of hyphae and the amount of conidiophores were studied. Results: The data proved that the different *Cordyceps militaris* strains' growth rate of hyphae and the amount of conidiophores were similar when cultivated in the same culture medium, meanwhile, the results showed obvious differences when the same strain grew in different culture media. Conclusions: The components of culture medium may make great effects on the *Cordyceps militaris* hyphae's growth rate and the amount of conidiophores.

[Key words] *Cordyceps militaris*; hypha; conidiophore

蛹虫草[*Cordyceps militaris* (L.) Link]又名北冬虫夏草,是指真菌的菌丝通过各种方法侵染鳞翅目昆虫,以昆虫体内的物质行寄生生活,通过不断的发育和分解后最终伸出昆虫体表,而形成的一种真菌与虫体外壳共存的生物体^[1]。无性世代为 *Paecilomyces militaris* Liang, sp. nov.^[2], 隶属于囊菌门、肉座菌目、麦角菌科、虫草属,是虫草属的模式种,为虫生药用真菌。据现代医学分析,蛹虫草富含虫草素、多糖、氨基酸、超氧化物与微量元素等多种成分^[3]。蛹虫草在功能食品、医药和生物学技术方面有很好的实用价值,在营养价值、活性成分和医疗保健功效等方面,都和冬虫夏草相似^[4]。蛹虫草是一种潜在的中药和具有滋补作用保健营养品^[5],研究发现其含有的虫草多糖是一种非特异性免疫增强及调节剂,具有抗衰老、抗氧化、抗凝血、降血糖、降血脂等作用,能提高免疫力,改善肝功能,延缓衰老等^[6]。目前,对蛹虫草菌丝特性的报道不够深入,为此,我们对蛹虫草菌丝的生长特性作了初步研究,现作报道。

1 材料与方 法

1.1 菌株 蛹虫草 QW1、QW2、QW3、QW4 引自贵

[收稿日期] 2007-10-16

[作者单位] 蚌埠医学院 病原生物学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 郑庆委(1980-),男,硕士,助教。

州大学真菌资源研究室。

1.2 培养基 (1)PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 ml。(2)加富 PDA 培养基^[7]:PDA 培养基另外加麦麸 50 g,蛋白胨 5 g, KH_2PO_4 3 g, MgSO_4 2.5 g,维生素 B₁ 0.01 g。(3)查氏培养基:硝酸钠 3 g,磷酸氢二钾 1 g,硫酸镁 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g,氯化钾 0.5 g,硫酸亚铁 0.01 g,蔗糖 30 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 ml。(4)沙氏培养基:蛋白胨 10 g,葡萄糖 40 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 ml。

1.3 方 法

1.3.1 培养基制备 (1)PDA 培养基:马铃薯削皮后切成碎块,煮沸后维持约 30 min,纱布过滤后向滤液中分别加入各药品,定容,分装入三角瓶,121 °C 灭菌 30 min。灭菌后在无菌操作台上倒平板。(2)加富 PDA 培养基:按配方同上处理。(3)查氏培养基:按配方同上处理。(4)沙氏培养基:按配方同上处理。

1.3.2 接种 将保存的蛹虫草菌种 QW1、QW2、QW3、QW4 于无菌操作台中分别接种至 PDA 培养基上,置于 26 °C 培养箱内培养。待菌丝长满培养皿时,用无菌打孔器在菌落边缘半径相同处取 0.5 cm × 0.5 cm 菌块转接到上述准备好的 4 种培养基中培养^[8],每 2 天记录 1 次生长情况。

1.3.3 分生孢子的测定 26 ℃培养箱内培养 14 天后,用 50 ml 万分之五的 Tween-80 洗脱分生孢子,制成孢子悬液,用血细胞计数板显微计数。

2 结果

2.1 蛹虫草菌丝生长情况 (1)不同蛹虫草菌株在 PDA 平板培养基中生长 14 天后,菌株 QW2 生长最快, QW1 与 QW3 相似, QW4 生长相对较慢。QW3 与 QW4 虽然菌落略疏,但是基内菌丝转色较

快,颜色较深。(2)不同菌株在加富 PDA 平板培养基中生长 14 天后,4 个菌株长势相似,较密实,产孢较多,菌落较大。菌株 QW1 生长最快, QW2 基内菌丝转色较快,颜色较深。(3)不同菌株在沙氏平板培养基中生长 14 天后,菌落中央都呈球形隆起,菌落稀疏,产孢量较少, QW1、QW2 与 QW3 生长速度相似, QW4 略慢。(4)不同菌株在查氏平板培养基中菌丝生长都很缓慢,产孢总量较少,基内菌丝转色较慢,但菌落密实(见表 1)。

表 1 不同蛹虫草菌株在不同平板培养基中生长第 14 天的情况

菌株	PDA 培养基					加富 PDA 培养基				
	气生菌丝	基内菌丝	产孢量(10 ¹⁰ /ml)	菌丝密集度	菌落直径(cm)	气生菌丝	基内菌丝	产孢量(10 ¹⁰ /ml)	菌丝密集度	菌落直径(cm)
QW1	白色	橘橙色	2.5	致密	5.2~5.4	白色	橘橙色	7.8	致密	6.2~6.4
QW2	白色	橘橙色	2.5	致密	5.5~5.8	白色	淡橘红色	3.7	致密	5.6~5.7
QW3	白色	橘红色	1.8	略疏	5.3~5.4	白色	橘橙色	1.8	致密	6.0~6.2
QW4	白色	淡橘红色	3.3	略疏	4.8~5.0	白色	橘橙色	6.8	致密	5.6~5.7

菌株	沙氏培养基					查氏培养基				
	气生菌丝	基内菌丝	产孢量(10 ¹⁰ /ml)	菌丝密集度	菌落直径(cm)	气生菌丝	基内菌丝	产孢量(10 ¹⁰ /ml)	菌丝密集度	菌落直径(cm)
QW1	白色	淡橘橙色	0.7	稀疏	5.8~5.9	白色	微橙色	1.7	致密	3.9~4.1
QW2	白色	微橙色	1.3	较疏	5.7~5.8	白色	橘橙色	2.0	致密	3.5~3.9
QW3	白色	橘橙色	0.5	稀疏	5.6~5.7	白色	浅橙色	0.6	致密	4.1~4.2
QW4	白色	微橙色	1.5	稀疏	5.1~5.2	白色	浅橙色	0.7	致密	3.8~4.1

2.2 蛹虫草菌丝生长速度的比较 不同菌株在同一培养基上菌丝生长速度相似,同一菌株在不同培养基上差别较大,在加富 PDA 培养基上菌丝生长速度最快,在沙氏培养基和 PDA 培养基上生长速度相似,而在查氏培养基上生长最慢(见图 1)。

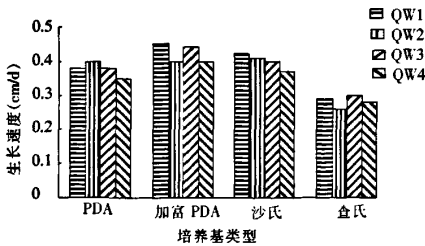


图 1 不同培养基上菌丝生长速度

2.3 不同蛹虫草菌株在不同培养基上产分生孢子数量的比较 相同菌株在不同培养基上产孢量差别较大,不同菌株在相同培养基上产孢量也不同。各菌株在加富 PDA 培养基上产分生孢子较多,在沙氏和查氏培养基上产孢量较少。在加富 PDA 培养基上,菌株 QW1 与 QW4 产孢较多,菌株 QW2 在 PDA 与加富 PDA 培养基上产孢量相似(见图 2)。

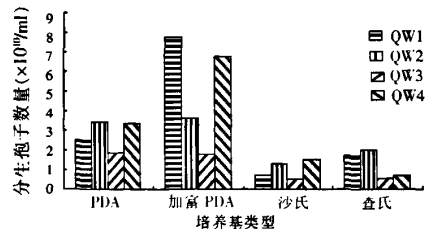


图 2 不同培养基上产分生孢子数量

3 讨论

不同蛹虫草菌株在不同培养基上培养时,在各培养基上气生菌丝都为白色,在营养丰富的 PDA 培养基和加富 PDA 培养基上,菌丝生长致密而旺盛,基内菌丝转色较快,产分生孢子的量较高,尤其在加富 PDA 培养基上,产孢量高增。这说明培养基成分对气生菌丝的颜色没有影响,而对基内菌丝转色确有影响,营养丰富有利于基内菌丝的转色,但在加富 PDA 培养基上的基内菌丝颜色却没有 PDA 培养基上的菌丝颜色转色深,营养过剩可能也不利于其转色。此外,培养基成分对菌丝生长速度也有影响,但对产分生孢子量的影响最大,营养丰富有利于菌丝生长,能够较大幅度提高蛹虫草产分生孢子的能力。

[文章编号] 1000-2200(2008)04-0397-03

· 基础医学 ·

调气活血补肾汤对慢性肾功能不全大鼠的影响

马文波¹, 郝新春², 王建一¹, 杨书文³

[摘要] 目的: 观察调气活血补肾汤对慢性肾功能不全(CRF)大鼠肾组织匀浆 NO 及脂质过氧化的影响。方法: Wistar 大鼠在乙醚麻醉下, 切除 5/6 肾脏制备慢性肾功能不全模型。5 周后, 按小剂量(生药 13.9 g/kg)、大剂量(生药 27.8 g/kg)给模型大鼠灌胃给药, 连续 10 周, 于给药 4 周、10 周后分两批处死大鼠, 制备肾组织匀浆, 测定 NO、一氧化氮合酶(NOS)及超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量。结果: 成功复制大鼠 CRF 模型。CRF 大鼠肾匀浆 NO 和 NOS 活性呈明显的早期升高、晚期下降趋势; 使用调气活血补肾汤治疗 4 周时显著抑制 NO 和 NOS 活性过分明显升高, 10 周时显著抑制 NO 和 NOS 活性过分持续降低。随病程延长 CRF 大鼠肾组织 SOD 活性呈逐渐下降, MDA 呈逐渐升高的趋势; 调气活血补肾汤治疗后肾组织 SOD 活性明显增强, 10 周时显著下降, MDA 则呈下降趋势; 以上作用大剂量药物组均优于小剂量组。结论: 调气活血补肾汤能改善和调节肾组织 NO 合成与释放、降低自由基损伤。

[关键词] 肾功能不全, 慢性; 调气活血补肾汤; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 692.5 **[文献标识码]** A

Effect of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction on experimental renal injury in rats

MA Wen-bo¹, GAO Xin-chun², WANG Jian-yi¹, YANG Shu-wen³

(1. Department of Urology Surgery, The First Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou Hebei 075000;

2. First Affiliated Hospital, Hebei North University, Zhangjiakou Hebei 075000;

3. Second Affiliated Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang Hebei 050061, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction on the nitric oxide(NO) and lipid overoxidation of renal homogenate in rats with chronic renal failure(CRF). **Methods:** The Wistar rats were resected five sixths of the kidney under anesthetization by ether to make animal models of chronic renal failure. After 5 weeks, the CRF rats were administered 13.9 g/kg BW and 27.8 g/kg BW for 10 weeks. All the rats were killed after 4 and 10 weeks, and the renal homogenate was made. The relevant indexes such as NO, nitric oxide synthase(NOS), superoxide dismutase(SOD) and malondialdehyde(MDA) were measured in the renal homogenate. **Results:** The model of CRF rats was successfully established. The activity of NO and NOS in the renal homogenate of CRF rats rose obviously at the early stage and descended at the later period. The over-rise and persistent decrease of the activity of NO and NOS were obviously inhibited after the administration of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction for 4 weeks and 10 weeks, respectively. With the prolonging of the disease, the SOD activity in the nephridial tissue of the CRF rats kept decreasing, and the content of MDA kept decreasing. After the therapy of Tiaoqi Huoxue Bushen decoction, the SOD activity and the content of MDA in the nephridial tissue of the CRF rats improved significantly. The effect was more obvious in the group treated with a large dose than in that receiving a small dose. **Conclusions:** The results demonstrate that Tiaoqi Huoxue Bushen decoction can improve and adjust the synthesis of NO, and decrease the free radical injury as well.

[Key words] renal failure, chronic; Tiaoqi Huoxue Bushen decoction; nitric oxide; nitric oxide synthase; superoxide dismutase; malondialdehyde; rats

[收稿日期] 2008-01-04

[作者单位] 1. 河北省张家口市第一医院 泌尿外科, 075000; 2. 河北北方学院 附属第一医院, 河北 张家口 075000; 3. 河北医科大学附属第二医院, 河北 石家庄 050061

[作者简介] 马文波(1973-), 男, 主治医师。

慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)是临床常见疾病, 多种原因导致的肾单位进行性破坏均可引起内环境紊乱, 如何延长健存肾单位的结构与功能, 成为临床治疗的重点。研究表明, 在肾功能

[参 考 文 献]

- [1] 郑庆荣, 康冀川. 蚕蛹虫草人工培育及药理作用研究进展[J]. 贵州大学学报·自然科学版, 2006, 23(1): 73-76.
- [2] 梁宗琦. 蛹虫草无性型-蛹虫草拟青霉的确定[J]. 食用菌学报, 2001, 8(4): 28-32.
- [3] Liu ZX. Cultivation and the infectious ways to silkworm chrysalis with liquid spawn of *Cordyceps militaris*[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(1): 58-60.
- [4] 纪朋艳, 罗 速, 崔新颖, 等. 中药蛹虫草的抗肿瘤活性及机制研究[J]. 北华大学学报·自然科学版, 2005, 6(4): 324-329.
- [5] 潘中华, 贡成良, 钱 敏. 家蚕蛹虫草多糖的提取及纯化工艺研究[J]. 中国蚕业, 2001, 23(4): 20-21.
- [6] 柴建萍, 白兴荣, 谢道燕. 蛹虫草主要有效成分及其药理功效[J]. 云南农业科技, 2003, (4): 22-23.
- [7] 黄清荣, 姜 华, 钟旭生, 等. 不同浓度葡萄糖、酵母粉对大蒜盖菇深层培养的影响[J]. 食用菌, 2005, 27(4): 13-15.
- [8] 肖建辉, 刘金伟, 刘祖林, 等. 江西虫草液体深层培养条件优化[J]. 食用菌学报, 2004, 11(1): 26-31.